

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE L'INFLUENCE DES CONDITIONS DE MILIEU
SUR LA RÉPARTITION DE L'AZOTE
DANS LE SOL

III. — ACIDES AMINÉS ET CONDITIONS D'AÉRATION ⁽¹⁾

J. DECAU

avec la collaboration technique de B. PUJOL

Station d'Agronomie et d'Enologie, 67, boulevard Deltour, 31 - Toulouse
Institut national de la Recherche agronomique

1969

Annales agronomiques

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, Paris-7^e



CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'INFLUENCE DES CONDITIONS DE MILIEU SUR LA RÉPARTITION DE L'AZOTE DANS LE SOL

III. — ACIDES AMINÉS ET CONDITIONS D'AÉRATION ⁽¹⁾

J. DECAU

avec la collaboration technique de B. PUJOL

Station d'Agronomie et d'Œnologie, 67, boulevard Deltour, 31 - Toulouse
Institut national de la Recherche agronomique

SOMMAIRE

Étude expérimentale de l'influence des conditions d'aération sur la répartition des acides aminés libres de paille, de sol additionné de paille ou de glucose et de sol seul mis en incubation. A partir des résultats obtenus, ont été analysées les relations entre la répartition des acides aminés des milieux incubés et celle des horizons de sol.

I. — INTRODUCTION

Grâce à l'analyse d'un nombre important de sols arables et de profils, nous avons pu montrer qu'il existe diverses relations entre la répartition des acides aminés extraits par hydrolyse et les conditions de milieu dans lesquelles évoluent ces composés (DECAU, 1969). Nous avons mis en évidence plusieurs mécanismes par lesquels interviennent certaines de ces conditions (climat, nature du sol, fumure). En revanche, nous n'avons pas envisagé jusqu'ici le mode d'action de l'une d'elles, l'aération du milieu. Nous nous proposons, dans ce mémoire, d'exposer les développements de nos travaux sur ce sujet.

⁽¹⁾ Le présent mémoire résume le dernier chapitre d'une thèse de doctorat ès Sciences naturelles qui a été soutenue en 1967 à l'Université de Clermont-Ferrand (n° E 74). Il fait suite à deux études (DECAU, 1968, 1969) dans lesquelles sont groupés les principaux résultats exposés dans les précédents chapitres de ce travail de thèse.

La dépendance de la répartition des acides aminés à l'égard des conditions d'aération est suggérée par deux observations parallèles relatives aux profils, observations que nous rappellerons ici :

1. Il existe des gradients importants des proportions de divers acides aminés en fonction de la profondeur, gradients qui sont en partie indépendants des variations des proportions relatives de matière organique libre ou liée et des principaux autres facteurs pédoclimatiques. Ces gradients sont surtout importants dans les sols à pseudogley.

2. L'aération et le taux d'oxygène du sol diminuent vers la profondeur. Cette diminution est évidente dans certains milieux étudiés dans lesquels se forme, en profondeur, un pseudogley. Elle est souvent probable aussi, malgré l'absence de signes visibles d'anaérobiose, dans les autres types de profils (WIEGAN et LEMON, 1958).

Mais cette double observation ne permet pas de prouver, ni *a fortiori* de mesurer, l'influence du facteur aération sur la répartition des acides aminés du sol.

Nous avons essayé d'apporter ici quelques éléments de réponse aux questions que notre précédente étude a posées. Dans ce but, afin d'essayer de préciser les mécanismes de différenciation des acides aminés des sols en fonction des conditions d'aération, plusieurs incubations expérimentales, aérobies ou anaérobies, de paille ou de sol additionné ou non de paille ou de glucose ont été réalisées, au cours desquelles ont été déterminées les variations des acides aminés libres.

Nous avons choisi d'étudier cette fraction de l'azote aminé des pailles et des sols en incubation en raison de sa mobilité, de sa variabilité (DADD, FOWDEN et PEARSALL, 1953 ; PAUL et SCHMIDT, 1961 ; SWIETOCHOWSKI et MIKLAZEWSKI, 1964), qui s'oppose à la stabilité des acides aminés totaux des mêmes substrats en fermentation (BREMNER, 1955 ; JACQUIN, 1960) mais aussi et surtout, en raison de sa situation au carrefour du métabolisme de l'azote et donc de sa participation certaine — au moins partielle — à l'édification de la fraction azotée de l'humus.

II. — MILIEUX ÉTUDIÉS ET TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

A. — Milieux étudiés ; conditions d'incubation

Quatre milieux ont été comparés (sol + paille, sol + glucose, sol seul et paille seule), incubés, d'une part en aérobie, d'autre part en anaérobiose.

1. *Aérobiose.*

Des lots de 25 g de paille de blé finement broyée sont placés dans des cristallisoirs de matière plastique de 300 ml puis humectés avec 75 ml d'une solution d'un sel d'ammonium contenant 250 mg d'azote.

Des lots de 100 g de terre tamisée à 2 mm, après mélange éventuel avec 2 g de paille ou de glucose, ont été placés dans des cristallisoirs puis humectés jusqu'à pF 3,1 par addition de 18 ml d'eau dans les sols sans paille, de 24 ml dans les sols avec paille.

Le sol utilisé est une argile limono-sableuse calcaire très pauvre en matière organique (0,7 p. 100).

Chaque lot de terre enrichi ou non en matière organique a reçu, sous forme de carbonate d'ammonium, 20 mg d'azote.

2. *Anaérobiose.*

Plusieurs échantillons de 60 g de paille broyée ont été placés dans des fioles coniques de 750 ml munies d'un bouchon de caoutchouc percé d'un trou dans lequel passe un tube à boules renfermant de l'eau. Chaque lot de paille a reçu 300 ml d'eau.

Des échantillons de 100 g de la terre utilisée précédemment ont été également placés dans des fioles coniques munies du même dispositif ; certains ont été additionnés de 2 g de paille ou de glucose. En l'absence de paille, la terre a reçu 60 ml d'eau, avec paille, 70 ml.

Les apports d'azote ont été dans chaque cas les mêmes que dans les milieux aérobies correspondants.

L'air contenu dans les diverses fioles coniques a été chassé et remplacé par du gaz carbonique. Les cristallisoirs et les fioles ont été placés en étuve bactériologique à 30°C pendant 4 ou 16 jours.

Des prélèvements ont été réalisés avant fermentation puis après incubation, pour déterminer les acides aminés libres et, dans quelques cas, l'acidité et l'état d'oxydo-réduction ainsi que les formes minérales de l'azote.

B. — Techniques analytiques

1. Détermination des acides aminés libres

a) Extraction et dosage.

Des poids de paille humide en incubation, correspondant à 4 g de paille sèche, et des lots de 100 g de terre additionnée ou non de substrat organique sont prélevés, sur lesquels les acides aminés libres sont extraits avec de l'alcool à 80 p. 100 par ébullition à reflux. Les solutions alcooliques sont ensuite concentrées sous vide, puis placées au contact des résines Dowex 50 $\times$ 4 sous forme H précédemment employées (DECAU, 1969).

Après lavage puis élution, la quantité d'acides aminés libres extraite est évaluée par une technique d'estimation colorimétrique globale (DECAU, 1969) puis, dans une partie aliquote de chaque éluat, les acides aminés sont séparés par électro-rhéophorèse suivant la méthode de BISERTE et *al.* (1960).

Les électro-rhéophorégrammes sont révélés ensuite par la technique précédemment décrite (DECAU, 1968) puis l'importance des taches mesurées par comparaison avec les taches de solutions étalons développées dans des conditions identiques.

b) Expression des résultats.

La technique de BISERTE et *al.* (1960) a permis de séparer et de déterminer les acides aminés et les groupes d'acides aminés suivants : acide aspartique, acide glutamique, sérine + glycolle, thréonine, alanine, proline, tyrosine, valine, phénylalanine + leucine + isoleucine, acide β amino-isobutyrique, β alanine, acide γ amino-butyrique, acide δ aminovalérique et acides aminés basiques.

Après détermination des coefficients d'extinction molaire des acides arrivés isolés et des coefficients moyens correspondants des acides aminés demeurant groupés, on a pu exprimer les résultats en proportions molaires d'acides aminés p. 100 de la somme des acides aminés dosés.

Par ces analyses, chaque milieu s'est donc trouvé caractérisé par les valeurs simultanées des 14 paramètres que sont les proportions molaires d'acides aminés. Afin de réaliser une comparaison d'ensemble des systèmes multivariés ainsi obtenus, nous avons fait appel à la méthode de mesure des distances généralisées de KENDALL et STUART (1966), méthode que nous avons précédemment employée (DECAU, 1968, 1969) et qui permet d'établir aisément et de façon globale les différences et les rapprochements entre les divers milieux étudiés.

2. Déterminations complémentaires

Au cours de l'essai, nous avons précisé, dans les incubations de sol, les conditions d'acidité et d'oxydo-réduction et, dans les incubations de paille seule, l'acidité et les teneurs en azote minéral.

Le pH a été mesuré sur un prélèvement de 2 g de paille ou de 10 g de terre, après addition de 25 ml d'eau, au moyen d'un pH-mètre à électrode de verre.

Les conditions oxydoréductrices ont été estimées par le test de JACKSON (1964).

L'azote ammoniacal échangeable a été déterminé à partir de l'extract obtenu par agitation d'un poids de paille au contact d'une solution de sulfate de potassium N/2, par colorimétrie après combinaison des ions ammonium avec le phénate-hypochlorite (CHARLOT, 1961).

L'azote nitrique a été extrait au moyen d'une solution saturée de sulfate de calcium et dosé, soit par la méthode à l'acide phénol-disulfonique (CHARLOT, 1961), soit par la méthode DEWARDA.

III. — RÉSULTATS

Les incubations expérimentales dont nous venons de décrire les conditions ont fait l'objet, suivant les cas, de 2 ou de 4 essais successifs. Dans les premières expériences, les acides aminés libres isolés ont été déterminés suivant des techniques

semi-quantitatives. Dans les dernières, en revanche, les principaux acides aminés ont fait l'objet d'études quantitatives. Les divers essais successifs ont fourni des résultats concordants ; nous indiquerons donc ici seulement les résultats obtenus lors de la dernière étude.

Nous envisagerons tout d'abord, de façon globale, la répartition des acides aminés libres, puis celle de l'azote minéral ; nous indiquerons ensuite les fluctuations des principaux acides aminés.

A. — Variations de la somme des acides aminés libres

Les acides aminés libres présentent des variations globales peu différentes, au cours des premiers jours d'incubation, quels que soient le substrat fermentant et les conditions expérimentales. On observe en effet (tabl. 1) une diminution générale, quoique variable, du taux des acides aminés libres après 4 jours d'incubation.

Par la suite s'amorce une différenciation très nette des milieux aérobies ou anaérobies. Celle-ci apparaît notamment quand on compare les teneurs globales en acides aminés libres des sols, additionnés ou non de paille ou de glucose, après 4 et après 16 jours d'incubation. Dans les milieux aérés, la teneur en acides aminés libres décroît entre le quatrième et le seizième jour ; elle augmente, en revanche, dans les milieux anaérobies.

TABLEAU I

Variations de la teneur globale des milieux en acides aminés libres au cours de l'incubation
(Nombre de micromoles d'acides aminés dans 100 g de sol ou dans 2 g de paille)

	Sans incubation	Après incubation		
		Conditions d'incubation	Durée d'incubation	
			4 j	16 j
Sol + paille	9,48	Aérobiose	1,62	1,34
		Anaérobiose	0,80	1,08
Sol + glucose	1,98	Aérobiose	1,92	1,77
		Anaérobiose	1,94	4,68
Sol	2,21	Aérobiose	1,18	0,80
		Anaérobiose	0,45	0,81
Paille	24,25	Aérobiose	5,27	2,83
		Anaérobiose	21,16	11,61

Nous avons déjà observé une telle différence d'évolution du taux d'acides aminés libres en fonction des conditions d'aération, lors de précédentes études d'incubation de paille (DECAU, 1962) : tandis qu'en milieu aéré, le taux d'acides aminés libres ne cesse de décroître jusqu'à atteindre un taux très faible, en l'absence d'air, la teneur en acides aminés libres décroît tout d'abord, passe par un minimum après 8 jours environ d'incubation, pour augmenter ensuite.

Les résultats du tableau 1 confirment donc que l'évolution du taux d'acides aminés libres est différente, en aérobose d'une part, en anaérobiose d'autre part, et montrent en outre que cette évolution est assez comparable dans les substrats incubés en présence ou en l'absence de sol.

B. — Variations des formes minérales de l'azote

Les nitrates n'étant présents dans nos fermentations de paille qu'à l'état de traces, ce qui vient confirmer les observations de BREMNER (1955), l'azote minéral se trouve presque en totalité sous forme ammoniacale.

Les teneurs en azote ammoniacal varient de façon très différente suivant les conditions d'aération des milieux, comme le montrent les données du tableau 2.

TABLEAU 2

Variations de la teneur en azote ammoniacal des pailles en incubation
(p. 1 000 de matière sèche)

Conditions d'incubation	Durée d'incubation (j)					29
	0	2	4	8	11	
Aérobiose	10,00	1,52	0,37	0,06	0,03	0,01
Anaérobiose	10,00	3,03	4,52	5,99	5,45	5,20

Tandis qu'en aérobose, la teneur en azote ammoniacal diminue très vite et demeure à un faible niveau, en milieu non aéré, la diminution est moins importante et une augmentation subséquente ramène la teneur en ions ammonium à 50 p. 100 de sa valeur initiale.

Cette évolution différente de l'azote ammoniacal suivant les conditions de milieu rappelle celle des acides aminés libres mais il convient, avant de rapprocher les deux faits, de préciser la nature des composés qui participent à la variation globale de l'azote aminé.

C. — Variations particulières des principaux acides aminés

Les résultats obtenus au cours de l'étude des acides aminés libres ont été exprimés sous forme de pourcentages molaires de la somme des acides aminés dosés. Ces résultats sont groupés dans le tableau 3.

Plusieurs faits ressortent de ces données :

— tout d'abord l'apparition, du fait de l'incubation, d'acides aminés nouveaux, l'acide β -aminoisobutyrique et l'acide δ -aminovalérique. Ces acides aminés apparaissent dans la plupart des milieux, mais ils sont plus abondants en anaérobiose qu'en aérobose, après 16 jours d'incubation qu'après 4 jours.

— ensuite, et ceci n'est qu'une extension des observations précédentes, la variation très générale des autres acides aminés, variation qui affecte particulièrement

TABLEAU 3
Variations des proportions molaires des principaux acides aminés

Milieux étudiés (1)	Incubation (jours)	Asp	Glu	Ser + Gly	Thr	Ala	Pro	Tyr	Val	Phe + Leu + Ile	β AIB	β Ala	γ ABu	δ AVI	Ac. am. basiques
SP	0	0,5	2,8	11,6	4,4	23,0	7,6	4,8	15,8	27,4	0	0,3	2,1	0	tr
SP AE	4	3,2	5,1	25,9	6,6	20,4	5,4	3,3	10,2	14,0	0	1,7	1,2	0	3,0
SP AE	16	1,8	7,2	21,2	4,5	15,8	6,8	5,2	12,9	48,2	0,7	1,5	2,2	0	2,0
SP AN	4	5,5	2,8	24,2	1,9	18,6	10,0	9,3	11,0	11,0	0,8	5,3	0,6	0	2,0
SP AN	16	5,1	5,8	28,8	5,9	14,1	5,4	6,4	7,0	5,7	1,0	3,7	2,1	1,8	7,2
SG	0	0,9	1,7	15,3	2,5	32,1	5,5	2,4	10,5	17,5	0	1,7	1,0	0	8,9
SG AE	4	1,7	9,7	23,5	2,5	23,4	11,9	1,2	8,2	9,1	0,6	1,5	1,2	0,2	5,3
SG AE	16	2,4	9,5	25,8	9,6	16,4	5,8	5,1	8,4	8,2	0,8	2,3	1,0	0,5	4,2
SG AN	4	1,8	2,2	15,1	7,2	33,1	8,8	10,5	9,3	5,4	1,0	1,8	0,5	0,5	2,8
SG AN	16	1,0	1,0	11,3	3,5	6,5	2,4	0	8,4	1,4	2,8	3,7	3,6	53,4	1,0
P	0	5,8	16,7	15,0	3,1	18,1	4,4	3,2	7,2	11,3	0	0,1	5,6	0	9,5
PAE	4	7,2	31,0	14,3	6,6	11,3	1,7	3,2	3,8	4,7	0	1,0	0,9	0,9	11,6
PAE	16	7,5	39,3	17,2	3,9	7,5	0,4	1,9	4,1	4,7	0	2,0	1,6	1,4	7,7
PAN	4	1,5	4,1	11,4	0	50,7	3,8	2,1	3,3	2,4	0,2	1,0	2,3	16,2	2,2
PAN	16	1,4	4,7	7,5	2,2	6,8	2,1	2,6	5,0	2,3	2,1	5,2	4,6	47,6	7,1
S	0	1,5	3,3	15,5	3,4	22,5	4,5	3,7	16,5	27,1	0	0,6	1,1	0	0,3
SAE	4	4,3	6,1	35,0	7,3	16,0	5,7	1,3	6,1	8,7	0	0,7	0,4	0	8,4
SAE	16	4,6	2,5	42,9	8,9	10,0	5,1	1,4	4,7	7,5	0	3,0	1,2	1,9	6,3
SAN	4	5,8	3,1	29,6	6,9	13,9	9,0	2,9	7,2	10,9	0	4,9	1,8	0	3,5
SAN	16	3,2	1,8	35,0	6,0	16,0	7,8	4,0	8,7	8,3	0	2,3	2,3	0,2	4,4

(1) SP : sol + paille ; SG : sol + glucose ; P : paille ; S : sol ; AE : aérobie ; AN : anaérobie.

l'acide glutamique (dans les pailles incubées en aérobiose notamment), certains acides aminés neutres aliphatiques (sérine + glycocolle, alanine, phénylalanine, leucine et isoleucine principalement) et, dans une plus faible mesure, la β -alanine, l'acide γ -aminobutyrique et les acides aminés basiques.

Ces variations multiples résultent de l'influence des conditions de milieu (conditions d'aération au cours de l'incubation, mais aussi durée d'incubation et nature des milieux incubés) sur le métabolisme des acides aminés libres.

Du fait du nombre important des variations simultanément obtenues, variations que déterminent les trois facteurs ci-dessus, l'exploitation directe des données s'avère nécessairement difficile. L'application d'une méthode de mesure des « distances » entre les milieux, méthode qui permet d'intégrer en une variation unique les multiples écarts particuliers des acides aminés, est donc nécessaire. Comme il a été indiqué plus haut (cf. techniques), nous avons fait appel dans ce but à la méthode de mesure des distances généralisées de KENDALL et STUART (1966), utilisée dans nos précédents mémoires (DECAU, 1968, 1969).

La distribution des acides aminés étant simultanément sous l'influence des conditions d'aération, de la durée d'incubation et de la nature des substrats, nous avons successivement essayé de dégager, dans cette expérience factorielle complexe :

1. l'influence propre à chaque facteur,
2. l'influence combinée des facteurs deux à deux,
3. l'influence cumulée des 3 facteurs.

Pour cela, dans les deux premières étapes de notre analyse, les milieux ont été tout d'abord répartis en groupes entre lesquels diffèrent seulement un ou deux des facteurs considérés. Dans chaque groupe, la répartition moyenne des acides aminés a été calculée puis, comme dans les travaux précédents (DECAU, 1968, 1969), les distances des divers milieux à la moyenne de leur groupe ont été déterminées et comparées statistiquement aux distances de ces mêmes milieux à la moyenne des autres groupes. En même temps, ont été calculées les distances entre les moyennes des groupes.

Dans la troisième étape de notre analyse, chaque milieu a été considéré isolément, dans ses rapports avec les autres milieux considérés de même, et les parentés et différences mises en évidence par la mesure des distances inter-milieux et par la recherche subséquente des constellations (technique de RAO (1952) et de VAN DEN DRIESSCHE (1965)).

Les composantes élémentaires des principales distances ont été étudiées et ainsi les écarts propres à chaque acide aminé ont pu être précisés.

1. *Influence générale de chaque facteur.*

Les résultats obtenus dans cette étude sont résumés et représentés schématiquement sur la figure 1.

Les données de la figure 1 A montrent que les milieux non incubés, les milieux incubés en aérobiose et les milieux incubés en anaérobiose, forment des groupes statistiquement distincts les uns des autres, mais on note aussi que les milieux aérobies et les milieux anaérobies sont moins éloignés les uns des autres que des milieux initiaux.

Il s'ensuit que l'évolution des acides aminés libres, lors de l'incubation, comporte

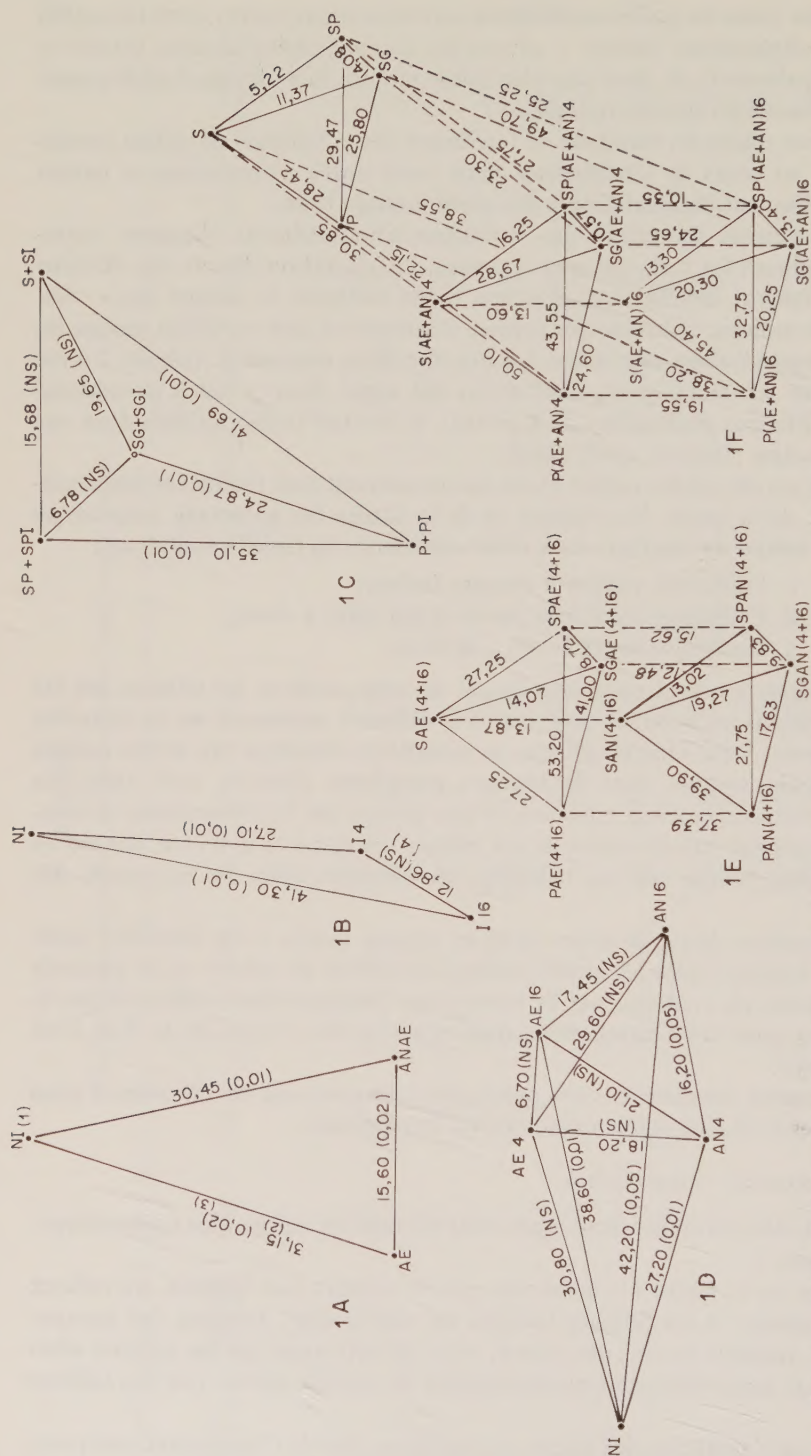


FIG. 1. — Distances de KENDALL et STUART entre les milieux formés des mêmes substrats ou soumis à des conditions ou des durées d'incubation identiques

(1) Signification des sigles :

NI : milieux non incubés ; AE : milieux incubés en aérobiose ; ANAE : milieux incubés en anaérobiose ;

I 4 : milieux incubés 4 jours ; I 16 : milieux incubés 16 jours ; P + PI : pailles initiales et incubées ;

SP + SPI : sols + pailles non incubés et incubés ; : AN 4 : milieux incubés en aérobiose pendant 4 jours ;

SAE (4 + 16) : sols seuls incubés en aérobiose ; S (AE + AN) 4 : sols seuls incubés pendant 4 jours.

SG + SGI : sols + glucose non incubés et incubés

(2) Distance intergroupes.

(3) Seuil de probabilité.

(4) N. S. distance non significative.

des processus communs en aérobiose et en anaérobiose ainsi que des processus différents.

L'analyse des composantes des distances inter-groupes met en effet en évidence principalement la diminution commune, sous l'effet de l'incubation, des proportions relatives du groupe des acides aminés à longue chaîne (phénylalanine, leucine et isoleucine) et l'apparition de l'acide β -aminoisobutyrique et de l'acide δ -aminovalérique. Elle permet aussi d'observer les variations différentes des taux d'acide glutamique, de thréonine et de β -alanine.

De même, l'examen de la figure 1 B permet d'observer l'éloignement grandissant des milieux incubés avec la durée d'incubation ($D_{NI-1(16)} (41,30) > D_{NI-1(4)} (27,10)$) mais aussi l'absence d'écart significatif entre les milieux incubés durant 4 jours et ceux qui l'ont été durant 16 jours.

De même, la figure 1 C montre que, parmi les 4 ensembles de milieux incubés, un seulement (la paille seule), très éloigné des autres milieux, en diffère significativement, et les données du tableau 3 montrent que les écarts résident principalement dans les taux plus élevés d'acide glutamique et d'acides aminés basiques et plus faibles d'acides aminés neutres : proline, valine, phénylalanine, leucine et isoleucine notamment. Mais l'éloignement des milieux renfermant seulement de la paille par rapport aux autres milieux est inégal : le sol additionné de glucose, le sol additionné de paille et le sol sans apport, se classent successivement par ordre croissant d'éloignement par rapport aux milieux à base de paille seulement.

2. Influence combinée des facteurs deux à deux.

Les résultats de l'étude de l'action combinée des facteurs aération, durée d'incubation, nature du substrat, considérés deux à deux, sont groupés, sur les figures 1 D, 1 E et 1 F.

En examinant tout d'abord la figure 1 D, nous pouvons faire les observations suivantes :

— en aérobiose, avec le temps d'incubation, augmente l'éloignement moyen des milieux incubés, par rapport à la moyenne des milieux initiaux. Mais les différents milieux se répartissent autour de leurs moyennes d'une manière telle que ces écarts ne sont pas significatifs ;

— en anaérobiose, la distance qui sépare la moyenne des milieux incubés de la moyenne des milieux initiaux croît, comme en aérobiose, avec le temps d'incubation. Mais ici les milieux demeurent suffisamment groupés autour de leurs moyennes pour différer statistiquement entre eux. Il semble donc que l'empreinte donnée par l'anaérobiose à la répartition des acides aminés libres l'emporte sur celle donnée par la durée d'incubation et par la nature du substrat incubé, alors qu'il n'en est pas ainsi en aérobiose.

L'étude de l'action combinée des conditions d'aération et de la nature du substrat nous a conduit (fig. 1 E) à grouper deux à deux les milieux incubés. A partir de tels groupes, par suite du nombre trop faible des composants, la recherche du seuil de signification des distances inter-groupes devient illusoire. Nous avons donc abandonné ici ce mode d'analyse des résultats et comparé seulement les distances entre milieux différemment incubés aux distances entre milieux de nature différente.

Nous voyons (fig. 1 E) que ce sont les milieux « paille seule » qui présentent la

distance la plus grande entre milieux incubés en aérobiose et milieux incubés en anaérobiose. ($D_{PAE} (4 + 16) - PAN (4 + 16) = 37.39$). Cette distance est supérieure à 3 des 6 distances qui séparent PAE ($4 + 16$) et PAN ($4 + 16$) des milieux renfermant du sol. Autrement dit, l'influence des conditions d'aération, pour les pailles en incubation, est sensiblement de même importance que celle de la nature du milieu (présence ou absence de sol).

Dans tous les autres milieux, par contre, la distance entre substrats aérobies et substrats anaérobies est généralement plus faible que celle qui sépare les milieux de nature différente. Ainsi par exemple, la distance SAE ($4 + 16$) — SAN ($4 + 16$) est plus faible que 5 des 6 distances qui séparent ces groupes des milieux de nature différente. L'influence des conditions d'incubation cède donc ici le pas à celle de la nature du milieu incubé.

L'étude de l'influence des facteurs durée d'incubation et nature des substrats, conduit à des résultats similaires (fig. 1 F). Les pailles incubées occupent ici, comme sur la figure 1 E, une position singulière : les distances qui séparent les pailles, aux divers stades d'incubation, des milieux renfermant du sol sont toutes supérieures à celles qui séparent les divers groupes de pailles incubées pendant des temps différents alors qu'il n'en est ainsi pour aucun autre milieu. En examinant les résultats obtenus pour les pailles incubées seules, nous voyons que les différences dues à la nature du milieu incubé (pailles d'une part, sols d'autre part) ont plus d'influence sur la répartition des acides aminés libres que la durée d'incubation.

Dans les autres milieux, l'influence de la nature du substrat et celle de la durée d'incubation sont en moyenne assez comparables ; mais elles sont variables suivant le milieu et suivant la période d'incubation considérés : 0 à 4 jours ; 4 à 16 jours. Nous voyons ainsi que la distance S — S (AE + AN)₄ est inférieure à 5 des 6 distances séparant ces milieux des autres groupes au même stade d'incubation, alors que c'est l'inverse pour la distance S (AE + AN)₄ — S (AE + AN)₁₆.

En définitive, l'étude de l'influence générale de chaque facteur et celle de l'action simultanée des facteurs deux à deux met en lumière les principaux faits suivants relatifs à la répartition des acides aminés libres :

- a) la parenté moyenne relative des milieux incubés, soit en aérobiose, soit en anaérobiose, qui s'oppose à leur éloignement des milieux non incubés ;
- b) la faible influence moyenne de la deuxième période d'incubation (du 4^e au 16^e jour) comparée à leur commun éloignement des milieux incubés ;
- c) la position particulière des milieux renfermant uniquement de la paille par rapport aux milieux sols ;
- d) l'importance relative différente des facteurs aération, durée d'incubation, nature des milieux sur la distribution des acides aminés libres des substrats (fig. 1 D, 1 E, 1 F), selon les milieux incubés.

Ces différents résultats montrent en définitive que, sauf cas exceptionnel, la répartition des acides aminés libres n'est pas déterminée par un facteur unique ou même par un couple de facteurs. Il faut donc étudier, dans chaque milieu, l'action combinée des 3 facteurs.

3. Influence combinée des 3 facteurs.

Pour étudier cette influence, il faut considérer isolément chacun des milieux analysés, dont la répartition d'acides aminés libres intègre l'action des 3 facteurs,

TABLEAU 4

Distances de KENDALL et STUART entre les différents milieux analysés

De SP à		De SG à		De P à		De S à		De SPAE (4) à	
S	5,22	S	11,37	SG	25,80	SP	5,22	SAN (4)	6,89
SPAE (16)	11,45	SP	14,08	PAE (16)	26,30	SG	11,37	SAN (16)	9,13
SG	14,08	SPAE (4)	20,12	S	28,42	SPAE (16)	13,02	SGAE (16)	12,73
SPAE (4)	18,30	SPAE (16)	21,13	SPAE (16)	28,48	SPAE (4)	14,37	SPAE (16)	12,75
SGAE (4)	27,98	SGAE (4)	24,30	SP	29,67	SGAE (4)	26,30	S	14,37
SAN (16)	29,40	P	25,80	PAE (4)	30,25	SPAN (4)	27,40	SAE (4)	14,44
P	29,67	SPAN (4)	26,18	SPAE (4)	32,99	P	28,42	SP	18,30
SPAN (4)	30,85	SAE (4)	29,07	PAN (4)	33,40	SAN (16)	30,20	SGAE (4)	19,40
SGAN (4)	31,58	SAN (16)	29,66	SGAE (4)	33,62	SGAN (4)	30,90	SG	20,12
SAN (4)	32,62	SAN (4)	30,41	SAE (4)	37,28	SAN (4)	32,05	SGAN (4)	20,77
PAN (4)	39,25	SGAN (4)	32,75	SAN (16)	38,90	SGAE (16)	34,90	SPAN (16)	20,95
SGAE (16)	39,50	SGAE (16)	37,50	SPAN (16)	41,42	PAN (4)	35,72	SPAN (4)	21,00
SAE (4)	43,75	SPAN (16)	40,88	SAN (4)	44,03	SAE (4)	38,00	SAE (16)	25,33
SPAN (16)	45,70	PAN (4)	42,08	SGAE (16)	46,52	SPAN (16)	45,70	P	32,99
SGAN (16)	59,58	PAE (16)	50,20	PAN (16)	48,50	PAE (16)	50,59	PAN (4)	43,10
SAE (16)	60,12	SAE (16)	51,22	SPAN (4)	49,29	SAE (16)	53,80	PAE (16)	44,66
PAE (16)	62,44	PAE (4)	53,41	SGAN (4)	50,74	SGAN (16)	55,33	PAE (4)	45,00
PAE (4)	68,22	PAN (16)	59,13	SAE (16)	57,77	PAE (4)	56,81	SGAN (16)	54,46
PAN (16)	69,45	SGAN (16)	59,70	SGAN (16)	59,00	PAN (16)	60,36	PAN (16)	60,34

De SPAE (16) à		De SPAN (4) à		De SPAN (16) à		De SGAE (4) à		De SGAE (16) à	
SP	11,45	SPAE (16)	16,20	SGAE (16)	6,17	SPAE (16)	16,14	SPAN (16)	6,17
SPAE (4)	12,45	SGAE (4)	17,39	SAN (16)	10,25	SGAE (16)	16,20	SGAN (4)	8,47
S	13,02	SAN (4)	18,04	SAN (4)	15,53	SPAN (4)	17,39	SAN (16)	11,65
SGAE (4)	16,14	SGAE (16)	18,70	SGAN (4)	18,51	SPAN (16)	18,81	SPAE (4)	12,73
SPAN (4)	16,20	SPAN (16)	20,35	SGAE (4)	18,81	SAN (16)	19,14	SAN (4)	13,40
SAN (16)	20,59	SGAN (4)	20,87	SAE (16)	19,35	SPAE (4)	19,40	SGAE (4)	16,20
SGAE (16)	20,77	SPAE (4)	21,00	SPAN (4)	20,35	SGAN (4)	22,25	SPAN (4)	18,70
SG	21,13	SAN (16)	22,67	SPAE (4)	20,95	SAE (4)	22,50	SPAE (16)	20,77
SAN (4)	21,96	SG	26,18	SPAE (16)	25,20	SAN (4)	24,03	SAE (16)	22,05
SPAN (16)	25,20	S	27,40	PAN (16)	28,96	SG	24,30	SAE (4)	23,62
SGAN (4)	27,95	SP	30,85	SAE (4)	31,41	S	26,30	S	34,90
P	28,48	SAE (4)	41,25	PAN (4)	31,61	PAN (4)	26,92	SG	37,50
SAE (4)	34,53	PAN (4)	45,38	PAE (16)	34,99	SP	27,98	PAN (4)	38,48
PAN (4)	39,48	SPAE (4)	46,70	SGAN (16)	35,91	P	33,62	SP	39,50
SAE (16)	46,18	P	49,29	SG	40,88	SAE (16)	38,62	PAE (4)	42,43
PAN (16)	48,61	SGAN (16)	49,82	P	41,42	PAE (16)	40,40	PAE (16)	43,03
SGAN (16)	49,15	PAN (16)	50,37	PAE (4)	41,93	SGAN (16)	40,80	PAN (16)	44,68
PAE (16)	52,20	PAE (16)	56,08	SP	45,70	PAN (16)	44,26	P	46,52
PAE (4)	62,47	PAE (4)	71,23	S	45,70	PAE (4)	52,30	SGAN (16)	46,75

TABLEAU 4 (*suite*)

De SGAN (4) à		De SGAN (16) à		De PAE (4) à		De PAE (16) à		De PAN (4) à	
SGAE (16)	8,47	PAN (16)	12,62	PAE (16)	9,02	SPAE (4)	9,02	PAN (16)	20,10
SPAN (16)	18,51	PAN (4)	30,50	SAE (4)	29,35	PAN (16)	23,75	SGAE (4)	26,92
SPAE (4)	20,77	SPAN (16)	35,91	P	30,25	P	26,30	PAE (16)	29,00
SPAN (4)	20,87	SGAE (4)	40,80	SAE (16)	32,60	SAE (16)	27,90	SGAN (16)	30,50
SAN (16)	21,20	SAE (16)	41,90	PAN (4)	41,25	PAN (4)	29,00	SPAN (16)	31,61
SGAE (4)	22,25	PAE (16)	42,10	SPAN (16)	41,93	SPAN (16)	34,99	P	33,40
SAN (4)	25,30	SAN (16)	44,05	PAN (16)	42,30	SAE (4)	37,85	SGAN (4)	34,50
SPAE (16)	27,85	SGAE (16)	46,75	SGAE (16)	42,48	SGAE (4)	40,40	S	35,72
S	30,90	SGAN (4)	48,25	SPAE (4)	45,00	SGAN (16)	42,10	SAN (16)	38,30
SP	31,58	SPAE (16)	49,15	SGAN (4)	51,20	SGAE (16)	43,03	SGAE (16)	38,48
SG	32,75	SPAN (4)	49,82	SAN (4)	51,30	SAN (16)	44,25	SP	39,25
SAE (4)	34,15	SAN (4)	53,70	SAN (16)	51,30	SPAE (4)	44,66	SPAE (16)	39,48
PAN (4)	34,50	SPAE (4)	54,46	SGAE (4)	52,30	SAN (4)	45,80	PAE (4)	41,25
SAE (16)	39,60	S	55,33	SG	53,41	SG	50,20	SG	42,08
SGAN (16)	48,25	P	59,00	S	56,81	S	50,59	SPAE (4)	43,10
PAN (16)	49,00	SP	59,58	SGAN (16)	62,30	SPAE (16)	52,20	SAE (16)	43,65
P	50,74	SG	59,70	SPAE (16)	62,47	SPAN (4)	56,08	SPAN (4)	45,38
PAE (4)	51,20	PAE (4)	62,30	SP	68,22	SGAN (4)	57,00	SAE (4)	47,90
PAE (16)	57,00	SAE (4)	72,00	SPAN (4)	71,23	SP	62,44	SAN (4)	52,00

De PAN (16) à		De SAE (4) à		De SAE (16) à		De SAN (4) à		De SAN (16) à	
SGAN (16)	12,62	SPAE (4)	14,44	SAN (4)	17,40	SAN (16)	6,27	SAN (4)	6,27
PAN (4)	20,10	SAN (4)	18,75	SAN (16)	17,90	SPAE (4)	6,89	SPAE (4)	9,13
PAE (16)	23,75	SAE (16)	20,75	SPAN (16)	19,35	SGAE (16)	13,40	SPAN (16)	10,25
SPAN (16)	28,96	SGAE (4)	22,50	SAE (4)	20,75	SPAN (16)	15,53	SGAE (16)	11,65
SAE (16)	38,50	SGAE (16)	23,62	SGAE (16)	22,05	SAE (16)	17,40	SAE (16)	17,90
PAE (4)	42,30	SAN (16)	24,45	SPAE (4)	25,33	SPAN (4)	18,04	SGAE (4)	19,14
SGAE (4)	44,26	SG	29,07	PAE (16)	27,90	SAE (4)	18,75	SPAE (16)	20,59
SGAE (16)	44,68	PAE (4)	29,35	PAE (4)	32,60	SPAE (16)	21,96	SGAN (4)	21,20
SAN (16)	45,20	SPAN (16)	31,41	PAN (16)	38,50	SGAE (4)	24,03	SPAN (4)	22,67
P	48,50	SGAN (4)	34,15	SGAE (4)	38,62	SGAN (4)	25,30	SAE (4)	24,45
SPAE (16)	48,61	SPAE (16)	34,53	SGAN (4)	39,60	SG	30,41	SP	29,40
SGAN (4)	49,00	P	37,28	SGAN (16)	41,90	S	32,05	SG	29,66
SPAN (4)	50,47	PAE (16)	37,85	PAN (4)	43,65	SP	32,62	S	30,20
SAN (4)	55,30	S	38,00	SPAE (16)	46,18	P	44,03	PAN (4)	38,30
SG	59,13	SPAN (4)	41,25	SPAE (4)	46,70	PAE (16)	45,80	P	38,90
SPAE (4)	60,34	SP	43,75	SG	51,22	PAE (4)	51,30	SGAN (16)	44,05
S	60,36	PAN (4)	47,90	S	53,80	PAN (4)	52,00	PAE (16)	44,25
SAE (4)	67,50	PAN (16)	67,50	PAN (16)	57,77	SGAN (16)	53,70	PAN (16)	45,20
SP	69,45	SGAN (16)	72,00	SP	60,12	PAN (16)	55,30	PAE (4)	51,30

et chercher les rapports mutuels entre ces milieux. Dans ce but, nous avons employé ici encore la méthode de mesure des distances multivariables et calculé les 190 distances particulières qui séparent deux à deux les 20 milieux étudiés.

Les résultats ainsi obtenus (tabl. 4) montrent que les écarts qui séparent les divers milieux sont très variables et qu'il existe, entre les écarts extrêmes,

$$D_{\min.} = D_S - SP = 5,22, D_{\max.} = D_{SAE(4)} - SGAN(16) = 72,00$$

toute une gamme d'écarts intermédiaires, c'est-à-dire toute une gamme de similitude et de différences entre les milieux étudiés.

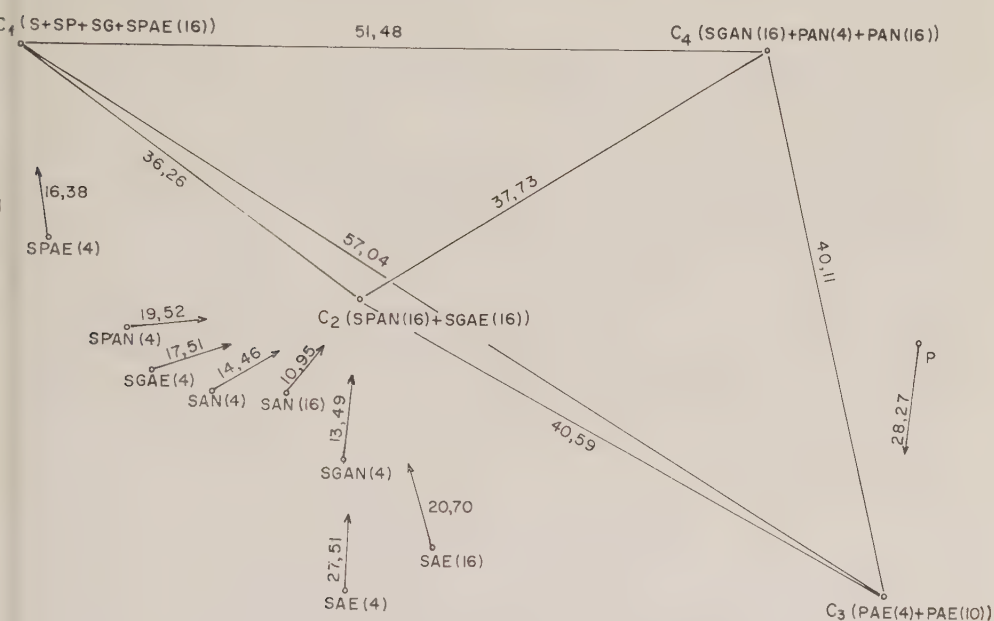


FIG. 2. — Répartition des différents milieux analysés.
Constellations et distances intergroupes

La méthode de recherche des constellations de VAN DEN DRIESSCHE (1965) a permis d'étudier ces similitudes et ces différences et de montrer ainsi que, parmi les 20 milieux étudiés, 11 d'entre eux se groupent en 4 constellations, c'est-à-dire en 4 groupes dont les composants satisfont aux relations :

$$\begin{aligned} \frac{D^2 \text{ intra-extra-constellation}}{D^2 \text{ interconstellations}} &> \frac{\bar{D}^2 \text{ intra-constellations}}{\bar{D}^2 \text{ intra-constellations}} \\ &> \bar{D}^2 \text{ intra-constellations} \end{aligned}$$

Les composants de ces constellations, les distances moyennes qui séparent ces groupes, la nature des principaux acides aminés responsables des écarts et la position, par rapport à ces constellations, des 9 milieux demeurant isolés, sont indiqués sur la figure 2.

Le sol additionné de paille (SP), le sol additionné de glucose (SG), le sol seul (S)

et le sol additionné de paille et incubé 16 jours en aérobiose (SPAE (16)) forment la première constellation (C_1). Le sol additionné de paille et incubé pendant 16 jours en anaérobiose (SPAN (16)) et le sol enrichi en glucose et incubé 16 jours en aérobiose (SGAE (16)) se groupent en une deuxième constellation (C_2). Les troisième et quatrième constellations sont respectivement constituées, l'une de la paille incubée 4 et 16 jours en aérobiose ($C_3 = \text{PAE (4)} + \text{PAE (16)}$), l'autre de la paille anaérobique incubée 4 et 16 jours et de l'ensemble sol + glucose incubé en anaérobiose durant 16 jours ($C_4 = \text{PAN (4)} + \text{PAN (16)} + \text{SGAN (16)}$).

Des distances relativement voisines séparent les constellations : l'éloignement le plus grand, qui sépare C_1 et C_3 , atteint 57,04, le plus faible, entre C_1 et C_2 , 36,26. Les acides aminés dosés participent diversement à la différenciation des constellations. La thréonine, l'acide β -amino-isobutyrique, la β -alanine et l'acide δ -aminovalérique et les ensembles sérine + glycocolle et phénylalanine + leucine - isoleucine, contribuent chacun pour plus de 4 unités à la distance C_1C_2 . L'examen des données du tableau 3 permet de compléter l'analyse en précisant le sens des variations des acides aminés. Ainsi, dans l'exemple considéré, nous pouvons préciser que les taux de sérine et de glycocolle, de thréonine, d'acide β -amino-isobutyrique, de β -alanine et d'acide δ -aminovalérique augmentent de C_1 vers C_2 tandis que les taux de phénylalanine, de leucine et d'isoleucine diminuent.

Une analyse plus complète, associant aux résultats obtenus pour les acides aminés principaux, très variables, ceux que fournissent les acides aminés moins variables, étendue ensuite aux 6 distances reliant C_1 , C_2 , C_3 et C_4 , permet de situer les écarts et les analogies entre les constellations et de dégager leurs origines. Nous voyons ainsi que la constellation C_1 diffère des 3 autres par sa pauvreté en acides aminés acides (Asp, Glu), en certains acides ω aminés (β -ala, δ -AVI) et en acides aminés basiques, mais aussi par sa richesse en alanine, proline, tyrosine, valine, phénylalanine, leucine et isoleucine. Pour 4 acides aminés seulement, cette constellation s'intercale entre les autres. Au contraire, la constellation C_2 présente, pour 9 acides aminés ou groupes d'acides aminés, des taux intermédiaires entre les extrêmes observés, C_1 et C_3 ou C_1 et C_4 . C_3 et C_4 , au contraire, présentent plus souvent des teneurs limites, généralement opposées. Tel est le cas pour l'acide aspartique, l'acide glutamique, l'acide β -amino-isobutyrique, la β -alanine et l'acide γ -aminobutyrique.

Ces observations conduisent donc à situer les constellations C_1 , C_3 et C_4 en 3 pôles entre lesquels vient s'insérer la constellation C_2 . Entre ces pôles se situent, pour la plupart, les milieux demeurant isolés. Nous avons essayé de placer ces milieux sur la figure 2 en mentionnant seulement les distances les plus faibles qui les séparent des constellations. Nous voyons ainsi que l'un d'eux, SPAE (4), est surtout caractérisé par sa relative proximité de C_1 , un autre, P, est surtout voisin de C_3 mais tous les autres, par contre, sont surtout « proches » de C_2 .

Les données de la figure 2 nous montrent donc, en définitive, que les milieux incubés sont tous, à une exception près, éloignés des milieux non incubés (S, SG, SP et P). Mais ceux-ci ne forment pas un groupe unique, la nature du substrat principal, paille ou sol, ayant, dans certains cas, une influence déterminante sur la répartition des acides aminés libres et sur leur évolution sous l'effet des conditions et de la durée d'incubation. Tandis que dans les pailles incubées, l'influence de l'aération l'emporte visiblement sur celle de la durée d'incubation (groupement PAE (4) — PAE (16),

PAN (4) — PAN (16) en 2 constellations) il en va différemment pour les sols. Ainsi, par exemple, dans le sol ayant reçu du glucose, si les conditions d'aération assurent une différenciation nette des milieux incubés ($D_{SGAE (4)} - SGAN (4) = 22.25$; $D_{SGAE (16)} - SGAN (16) = 46.75$), la durée de fermentation n'entraîne pas une différenciation moindre ($D_{SGAE (4)} - SGAE (16) = 16.20$; $D_{SGAN (4)} - SGAN (16) = 48.25$).

Ainsi donc, la mesure des distances entre les milieux et la recherche des constellations permettent bien de faire apparaître les parentés et les divergences entre les milieux analysés ainsi que, dans un certain nombre de cas, leurs causes, mais une analyse plus approfondie des résultats est nécessaire pour comprendre les mécanismes de différenciations de la répartition des acides aminés libres des milieux étudiés.

IV. — DISCUSSION ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les diverses analyses précédentes (analyse globale des acides aminés et de l'azote minéral, analyse particulière des principaux acides aminés) ont permis de mettre en évidence divers résultats intéressants (fluctuations de même sens du taux global d'acides aminés et de l'azote ammoniacal, fluctuations différentes des taux des différents acides aminés sous l'effet des facteurs étudiés) dont il convient maintenant de rechercher et d'analyser les causes et les mécanismes.

Ce travail d'analyse nous permettra ensuite, par la confrontation des données ci-dessus avec les résultats obtenus dans l'étude des acides aminés totaux des sols (DECAU, 1969), de mieux cerner certaines causes de variations des proportions molaires des acides aminés des sols.

A. — *Relations entre les acides aminés libres et les formes minérales de l'azote*

Les variations de la somme des acides aminés libres et de l'azote minéral présentent, tant en aérobiose qu'en anaérobiose, de grandes similitudes. En milieu aéré, la diminution des acides aminés s'accompagne d'une décroissance aussi importante de l'azote ammoniacal, forme d'azote prépondérante dans les milieux étudiés.

En l'absence d'air, les teneurs en acides aminés libres et en ions ammonium passent l'une et l'autre par un minimum quelques jours après le début de l'incubation.

Il est probable qu'en aérobiose, dans un milieu riche en substrats énergétiques très fermentescibles, tel que la paille de blé, et dans lequel se manifestent d'intenses besoins d'azote, les acides aminés libres sont avant tout des fournisseurs d'azote pour les microorganismes et, utilisés comme tels, disparaissent du milieu presque au même rythme que l'azote minéral.

En anaérobiose, après une phase initiale d'organisation de l'azote, relativement comparable à celle des milieux aérobies, les phénomènes de minéralisation l'emportent un moment puis s'établissent dans le milieu un taux élevé d'azote ammoniacal. En même temps s'accumulent, par suite de l'absence d'oxydant, les substrats carbonés simples et se trouvent ainsi réunis les matériaux qui, par des réactions anaérobies, peuvent conduire à une importante synthèse de certains acides aminés.

Ainsi donc, de leur utilisation possible comme source d'azote en milieu aérobie pauvre en azote minéral, de la synthèse de certains d'entre eux en présence d'azote ammoniacal et en conditions réductrices, résultent les similitudes notées entre les variations des acides aminés libres et celles de l'azote ammoniacal, dans les pailles en incubation.

Mais ce parallélisme, observé dans des conditions expérimentales particulières, ne paraît pas s'étendre aux autres phases du cycle de l'azote, comme le suggèrent les résultats de ROBERT (1964) : au cours de l'incubation aérobie d'un sol, en l'absence d'apport de matière organique, la minéralisation de l'azote l'emporte sur sa réorganisation mais, tandis que croît la teneur en azote minéral (principalement constitué ici d'azote nitrique), le taux d'acides aminés libres diminue ; cette diminution est la conséquence de la participation active, dans ces conditions, des acides aminés libres, aux réactions de minéralisation de l'azote et donc de leur contribution potentielle à l'alimentation azotée des plantes.

B. — *Causes de différenciation de la répartition des acides aminés libres*

Il ressort, de l'ensemble de nos résultats (tabl. 3 et fig. 1 et 2), que les écarts observés dans la répartition des acides aminés résultent de l'influence combinée des conditions d'aération, de la durée d'incubation et de la nature du substrat. Il s'ensuit qu'il est difficile d'étudier la part d'influence propre à chaque facteur. Cependant, nous avons vu, pour l'un des substrats, la paille, que l'un des facteurs, l'aération, joue un rôle déterminant dans la dynamique des acides aminés libres. Nous étudierons donc tout d'abord le rôle des conditions d'aération en considérant le cas des fermentations de paille. L'influence de la nature du substrat pourra être étudiée ensuite, en deux étapes successives. Nous pourrons tout d'abord étudier l'influence due à la présence de sol en comparant les incubations de paille seule et les incubations de paille ajoutée au sol ; nous pourrons ensuite préciser l'influence de la nature du substrat incorporé au sol en comparant sol + glucose, sol + paille et sol seul. Nous serons amené ici à indiquer le rôle du facteur temps dans les phénomènes.

1. *Différences dues aux conditions d'aération.*

Au cours des incubations, suivant qu'ils sont en aérobie ou en anaérobiose, les acides aminés subissent une évolution différente.

En aérobie, les acides aminés sont activement utilisés par les microorganismes pour leurs synthèses protoplasmiques et participent aussi probablement aux réactions de condensation avec les composés phénoliques libérés de la paille en cours d'incubation (FLAIG, 1964), pour former des matières humiques.

L'augmentation relative de l'acide glutamique peut être due à sa participation moins active à l'une et l'autre de ces réactions, mais il se peut aussi que cet acide aminé soit formé en plus grande quantité que tout autre dans ce milieu, du fait qu'il est le premier composé aminé synthétisé à partir du cycle tricarboxylique, cycle alimenté par l'oxydation des sucres et d'une partie des hémicelluloses et celluloses de la paille.

En anaérobiose, la chute initiale du taux d'acides aminés libres peut provenir,

soit de la prolifération d'organismes anaérobies qui utilisent les acides aminés libres pour la synthèse de leur propre matière, soit de la multiplication d'organismes aérobies utilisant aussi les acides aminés libres et se développant au début de l'incubation, tant que des conditions très réductrices ne se sont pas établies.

L'augmentation ultérieure du taux d'acides aminés pourrait être *a priori* attribuée à plusieurs causes : autolyse des tissus de la paille et des corps microbiens formés au cours de la phase initiale, absence de condensations d'acides aminés avec les composés phénoliques et, au cours d'une phase où le besoin d'azote est devenu faible, synthèse active d'acides aminés par les microorganismes suivant des voies préférentielles liées aux conditions du milieu.

La répartition des acides aminés trouvés aux différents stades de l'incubation anaérobie, dans la paille et dans le sol additionné de glucose notamment, met en lumière le rôle primordial de ce dernier processus. La répartition des acides aminés libres est en effet considérablement modifiée par l'apparition d'acide β -amino-isobutyrique, d'acide δ -aminovalérique et d'amines et par l'augmentation du taux d'alanine mais il est certain, par ailleurs, que l'accumulation relative de ces produits, si elle résulte en premier lieu de synthèses microbiennes, est vraisemblablement favorisée aussi par l'absence de condensation des acides aminés avec des composés phénoliques en l'absence d'oxygène (FLAIG, 1964).

Les plus importants des acides aminés formés sont ceux qui prennent naissance par des réactions n'exigeant pas la présence d'oxygène, à partir de produits eux-mêmes issus de réactions dans lesquelles celui-ci n'intervient pas non plus. Ainsi, l'alanine provient très probablement de l'acide pyruvique par une amination réductrice directe (TURNER, 1960), cet acide cétonique, issu de la dégradation des sucres, hemicelluloses et celluloses de la paille, ne pouvant, dans ce milieu, être dégradé par la voie tricarboxylique. L'acide δ -aminovalérique proviendrait, selon STADTMAN (1956), de la réduction de la proline, provoquant l'ouverture du cycle de cet amino-acide. La β -alanine et l'acide γ -aminobutyrique pourraient provenir de réaction de décarboxylation, réactions qui ne nécessitent pas la présence d'oxygène et peuvent être provoquées par des microorganismes anaérobies.

2. Différences liées à la nature des substrats.

Les proportions d'acides aminés libres des milieux aérobies et anaérobies formés à partir d'un même substrat, la paille, sont beaucoup plus voisines lorsque ce matériel est incubé en présence de sol que lorsqu'il est incubé seul :

(fig. 1 E : $D_{SPAE} (4 + 16) - SPAN (4 + 16) = 15,62$; $D_{PAE} (4 + 16) - PAN (4 + 16) = 37,39$).

La présence de sol efface donc en partie l'effet des conditions expérimentales différentes mises en œuvre. Ceci tient à une importante propriété du sol, son *pouvoir tampon*. Celui-ci s'exerce à la fois vis-à-vis du pH et vis-à-vis du potentiel d'oxydo-réduction.

Toutefois, l'effet tampon du sol vis-à-vis du pH ne saurait expliquer la différence de distribution des acides aminés de la paille incubée seule et de la paille incubée en présence de sol. En effet, les différences de pH des pailles incubées seules d'une part, en présence de sol d'autre part, sont relativement peu importantes et, de plus, nous avons observé qu'un plus large écart de pH n'affecte guère la répartition des acides

aminés libres : un essai complémentaire d'incubation de sol et de paille, conduit à un pH nettement différent (à la suite de la substitution, comme source azotée, de sulfate d'ammonium au carbonate d'ammonium), a en effet donné des résultats très voisins de ceux que nous avons décrits ci-dessus.

Par contre, l'*effet tampon du sol vis-à-vis du potentiel d'oxydation* — effet qui s'exerce surtout par l'intermédiaire des systèmes redox du sol, dont le principal est le système fer ferreux/fer ferrique — ainsi que, dans une certaine mesure, l'hétérogénéité des conditions d'aération du sol aérobie, sont les causes manifestes de la moindre différenciation du spectre des acides aminés du sol par rapport à celui des pailles.

TABLEAU 5

Évaluation du taux de fer ferreux présent dans les milieux incubés
(d'après le test de JACKSON (1964))

Milieux incubés	Conditions	Durée d'incubation	
		4 j	16 j
Sol + paille	Aérobiose		
Sol + glucose	—		+
Sol.....	—		
Sol + paille	Anaérobiose	+	+++
Sol + glucose	—	+++	++ + + -
Sol.....	—		+

En effet, dans nos essais aérobies, le sol, malgré son humidité moyenne (pF 3.1) et le brassage fréquent qu'il subit, forme de petites mottes particulièrement stables et il est probable que les intenses besoins d'oxygène qui se manifestent au début de l'incubation ne sont pas parfaitement satisfaits dans les parties du sol situées à l'intérieur de ces volumes. Cette hypothèse expliquerait notamment l'existence, dans ces milieux, de petites quantités d'acide δ -aminovalérique, acide aminé prenant naissance en milieu réducteur.

Inversement, tandis que dans les fermentations anaérobies de paille seule s'établissent rapidement des conditions réductrices, en présence de sol, dans l'anaérobiose, s'instaure tout d'abord un métabolisme aérobie fonctionnant aux dépens du fer ferrique ; il en résulte l'*apparition progressive de fer ferreux* dont nous avons pu suivre la vitesse de formation. Absent au début de la fermentation, le fer ferreux est encore peu abondant après 4 jours d'incubation anaérobie, mais son taux continue de croître avec la durée d'incubation (tabl. 5). Ces faits montrent donc que les conditions redox sont moins différentes dans les milieux sol + paille aérobie ou anaérobie que dans les pailles seules correspondantes, non pourvues de système redox à grand pou-

voir tampon. De ces plus faibles écarts de conditions redox des ensembles sol + paille, peut résulter la moindre différenciation observée dans la répartition des acides aminés libres. C'est ce que tendent à confirmer les résultats de l'étude comparée des conditions redox des sols incubés en présence de substrats et pendant des temps différents.

Tandis que dans le sol additionné de paille, les conditions anaérobies s'établissent lentement (apparition progressive du fer ferreux), dans le sol additionné de glucose, l'apparition de conditions réductrices est beaucoup plus rapide, du fait de la plus grande fermentescibilité du substrat ; bien qu'il apparaisse, en milieu « aéré », quelques signes d'anaérobiose, la différence de conditions redox est importante et rappelle, après 16 jours d'incubation, celle que réalisent, dès les premiers jours, les milieux renfermant la paille seule. Dans ces conditions, la différence de répartition des acides aminés est importante ($D_{SGAE(16)} - SGAN(16) = 46.75$) et rappelle la différence observée entre les pailles aérobies et anaérobies. De plus, il existe une grande similitude entre les conditions très réductrices du sol anaérobie ayant reçu du glucose et celles de la paille anaérobie. Or, ces milieux présentent une distribution des acides aminés libres très voisine, ce qui les situe dans la même constellation (fig. 2).

A l'opposé des sols enrichis en glucose, se placent les sols ne recevant aucun substrat organique. Ici, quelles que soient les conditions d'incubation, les conditions redox sont peu différentes, du fait de la faible consommation des milieux en oxygène. Or ici, les distances entre les milieux « aérobie » et « anaérobie » sont plus faibles que dans les autres milieux (fig. 1 E : $D_{SAE(4+16)} - SAN(4+16) = 13.87$).

Ces différents faits suggèrent donc l'existence d'une relation étroite entre la répartition des acides aminés libres et les conditions oxydo-réductrices.

La différenciation du spectre des acides aminés libres avec les conditions d'aération provient probablement de l'existence de seuils du potentiel d'oxydoréduction limitant les conditions de formation de certains acides aminés, l'alanine, l'acide δ -aminovalérique notamment.

C. — *Relation entre la répartition des acides aminés dans les incubations expérimentales et dans les sols en place*

Nos incubations expérimentales mettent en évidence les variations de la répartition des acides aminés libres avec les conditions d'aération et montrent ainsi la plasticité des microorganismes, avec les conditions de milieu, dans leurs réactions de synthèse et d'excrétion d'acides aminés.

Ainsi, nous voyons notamment augmenter (cf. tabl. 3), dans les incubations en l'absence d'oxygène, les proportions d'alanine, de β -alanine et d'acide γ -aminobutyrique libre. Or, nous avons noté antérieurement, dans les profils (cf. DECAU, 1969, tabl. 1, annexe 1) l'augmentation quasi générale de ces acides aminés vers la profondeur.

De telles variations de même sens rapprochent les milieux aérobies et les horizons de surface d'une part, les horizons profonds et les milieux anaérobies d'autre part, mais il existe des acides aminés (la tyrosine notamment) qui présentent des variations opposées, de sorte qu'ici encore, seule une mesure des distances globales entre ces milieux peut permettre de dégager les tendances générales.

Nous avons calculé dans ce but les distances entre le groupe des horizons de surface (Hs) et celui des horizons profonds (Hp) des mêmes sols d'une part — groupes

qui ont été définis précédemment (DECAU, 1969) — et les constellations C_1 et C_4 de la figure 2 d'autre part. Le choix de ces constellations nous a été dicté par les conditions de milieu limites qui les caractérisent. En C_1 , se trouvent groupés des milieux « non incubés » mais réunissant en fait des sols dont la matière organique a été antérieurement formée en aérobiose et un sol ayant reçu de la paille et incubé en aérobiose. En C_4 , se groupent des milieux typiquement anaérobies, dont un sol ayant reçu du glucose.

Par rapport à ces milieux aérobies ou anaérobies, H_s et H_p se placent différemment et nous pouvons voir (fig. 3) que H_s est plus près de C_1 que H_p ; inversement H_p est plus près de C_4 .

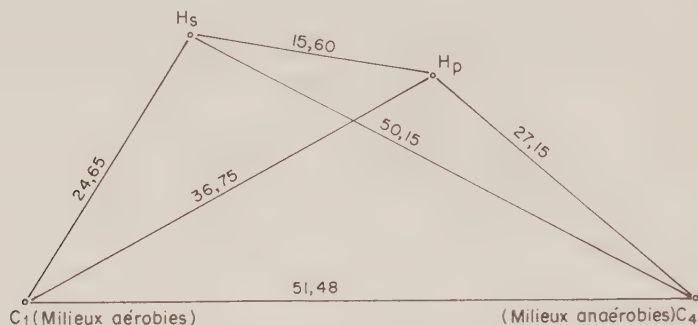


FIG. 3. — Distances intergroupes entre la répartition des acides aminés libres des milieux aérobies ou anaérobies et la distribution des acides aminés totaux des horizons superficiels ou profonds des sols

Il existe donc bien une analogie d'ensemble entre la répartition des acides aminés libres des milieux aérobies et la répartition des acides aminés totaux des horizons de surface ainsi qu'entre les milieux anaérobies et les horizons profonds. Il semblerait donc d'après ces résultats, que l'on puisse attribuer à la diminution du taux d'oxygène vers les horizons profonds les gradients d'acides aminés en fonction de la profondeur. Mais il est manifeste que les similitudes ne sont que partielles comme le montrent notamment les valeurs élevées des distances $H_s - C_1$ et $H_p - C_4$ et comme il apparaît aussi lorsqu'on compare les résultats du tableau 3 du présent mémoire et ceux du tableau annexe 1 du précédent (DECAU, 1969).

Ainsi, la proportion d'acide δ -aminovalérique demeure infime dans les profils, comparée à celle de certains milieux en incubation ; la proportion d'alanine ne varie pas dans les profils, avec les conditions d'aération, aussi largement que dans les fermentations expérimentales ; enfin et surtout, la tyrosine libre est très généralement plus abondante en milieu anaérobie qu'en milieu aérobie alors que sa proportion décroît, dans les profils, vers les niveaux profonds.

Cependant, ces apparents désaccords s'expliquent assez bien ; la rareté de l'acide δ -aminovalérique, la faible variation du taux d'alanine avec la profondeur, proviennent de ce que les échantillons de sol étudiés, de l'horizon de surface au pseudogley, ne présentent jamais des conditions oxydo-réductrices aussi diamétralement opposées que celles de la paille ou du sol enrichi de glucose, en incubation aérobie et anaérobie.

Les variations moindres de certains acides aminés dans les profils pédologiques

viennent aussi non seulement du pouvoir tampon du sol vis-à-vis du potentiel d'oxydo-réduction, mais encore de la provenance même de ces acides aminés. Dans les profils en effet, ont été dosés, soit les acides aminés de l'ensemble du sol, soit les acides aminés de la matière organique humifiée, et non les seuls acides aminés libres.

Il est certain que de ce fait se trouve considérablement estompé l'effet des conditions d'aération, conditions qui comportent en fait, quel que soit l'horizon étudié, une alternance d'aérobioses et d'anaérobioses de durées variables ; et ceci explique les variations moindres des proportions de certains acides aminés, tels l'acide glutamique et l'alanine, dans les profils de sols, par rapport à celles des pailles et des sols en incubation.

Quant à la présence d'une proportion plus importante de tyrosine, parmi les acides aminés libres, en milieux anaérobies, elle peut résulter du phénomène suivant : les acides aminés libres se situent à un carrefour du métabolisme et peuvent, de ce fait, subir, suivant les conditions pédoclimatiques, un sort différent. Ainsi, en milieu aéré se trouvent réalisées les conditions de synthèse de matières humiques ; en milieu anaérobie en revanche, une telle synthèse n'est guère possible. Il est donc probable qu'en aérobiose une fraction des acides aminés libres participe à la synthèse de l'humus et il est probable aussi qu'à ce phénomène participe particulièrement la tyrosine dont est bien établie l'aptitude à la polycondensation (THOMAS, 1958). En milieu réducteur, la tyrosine, ne pouvant subir le même sort, demeurerait en plus grande abondance dans le milieu.

Ceci montre la nécessité d'étudier, dans de nouvelles expériences, le sort des acides aminés libres formés en aérobiose et en anaérobiose et d'envisager plus particulièrement leur aptitude à l'incorporation dans les acides humiques. Cette étude fera l'objet de notre prochain travail.

D. — *Principaux phénomènes assurant la différenciation des proportions des acides aminés des sols*

L'examen comparé de la répartition des acides aminés dans les milieux incubés et dans les horizons du sol a permis de montrer que les écarts de distribution des acides aminés libres entre milieux aérobies et anaérobies et les écarts entre horizons de profondeur différente sont plus souvent comparables (fig. 3). Ceci traduit une parenté certaine entre la répartition des acides aminés libres et celle des acides aminés liés, inclus pour leur plus grande part dans des matières humiques (SCHARPENSEEL, 1962). Cette parenté ne saurait surprendre ; il est probable en effet que le rythme d'incorporation des acides aminés dans les matières humiques dépend de leur concentration relative à l'état libre dans le milieu.

Mais la concentration des acides aminés libres n'est pas le seul facteur susceptible d'agir sur la distribution des acides aminés des sols. En effet :

1. la distribution des acides aminés libres, extractibles à l'alcool, n'est qu'une image imparfaite de la répartition réelle des acides aminés disponibles pour construire l'humus. Des essais d'addition d'acides aminés au sol suivie d'extraction rapide par l'alcool ont permis de montrer que la récupération n'est que partielle et varie selon les acides aminés ajoutés : tandis que les acides aminés neutres sont, pour la plupart, en grande partie extractibles par l'alcool (taux de récupération supérieur à 60 p.100) les acides aminés basiques le sont beaucoup moins (PAUL et SCHMIDT, 1960) parce

qu'ils sont plus fortement retenus par les colloïdes du sol. Mais les basiques n'en ont pas nécessairement pour cela une moindre aptitude à se combiner aux composés phénoliques et à entrer ainsi dans la constitution des matières humiques.

2. Une étude de HAIDER, FREDERICK et FLAIG (1965) a montré que chaque acide aminé ne réagit pas de la même façon avec les composés phénoliques. Ainsi, lorsque sont mis en présence, dans un rapport donné, un polyphénol et un acide aminé, il se forme, sous l'action d'une phénolase, une masse de polycondensat variable suivant la nature de l'acide aminé ; avec l'hydroquinone par exemple, la proportion de tryptophane ou d'isoleucine combinée est grande tandis qu'elle est particulièrement faible pour le glycolle ou la thréonine.

3. Bien que la proportion des acides aminés directement fixés sur les colloïdes minéraux soit probablement faible (SCHARPENSEEL, 1962), on ne peut exclure, dans certains milieux, l'éventualité d'une participation relativement importante des phénomènes d'adsorption à la répartition des acides aminés des sols. Tel pourrait être le cas notamment pour les sols d'Afrique dans lesquels les argiles dégradées ont donné naissance à des colloïdes amorphes à grand pouvoir adsorbant.

Les acides aminés basiques pourraient aussi se trouver en partie protégés contre la dégradation bactérienne grâce à leur adsorption, soit à l'état isolé, soit sous forme de protéines (complexes silicoprotéiques), et prendre de ce fait dans la répartition globale des acides aminés une plus large place. L'adsorption plus énergique des basiques pourrait d'ailleurs être à l'origine de leur dégradation moins rapide que celle des autres acides aminés lorsqu'ils sont ajoutés au sol (STEVENSON, 1956 ; COULSON, DAVIES et KHAN, 1959 ; PUTNAM et SCHMIDT, 1959) ; ce phénomène explique aussi probablement la prépondérance de ces acides aminés, observée par STEVENSON (1956) et par YAMISHITA et AKIYA (1963), dans les sols pauvres en matière organique c'est-à-dire dans des milieux dans lesquels la dégradation microbienne des acides aminés est très poussée.

4. Il est probable que l'azote n'est pas incorporé dans les composés phénoliques uniquement sous forme d'acides aminés isolés et que des peptides et des protéines peuvent aussi être fixés et combinés (TINSLEY et ZIN, 1954). Un tel phénomène expliquerait d'ailleurs les différences observées entre la répartition des acides aminés des colloïdes humiques des horizons de surface et celle des horizons profonds : en effet, les colloïdes humiques des horizons supérieurs pourraient être en grande partie formés à partir des peptides et des protéines des tissus vivants, principalement végétaux, sans qu'intervienne un remaniement important, par les microorganismes, de ces composés azotés, tandis que les acides humiques des niveaux profonds, plus évolués, résulteraient d'une plus active participation microbienne et contiendraient de ce fait, d'une part davantage d'acides aminés fixés isolément, acides aminés excrétés ou libérés par les microorganismes, d'autre part des complexes protéiques microbiens.

L'existence et l'importance relatives probables de tels mécanismes se trouve confirmée par l'étude des acides aminés de ces deux types de milieux, les acides aminés non protéiques d'origine principalement ou uniquement microbienne (acides ω aminés, acide diaminopimélique) étant moins abondants et les rapports des acides aminés neutres à chaîne courte à leurs homologues supérieurs étant moindre dans les matières humiques des horizons de surface que dans les matières humiques des niveaux profonds (DECAU, 1967).

CONCLUSION

Le présent travail a permis de montrer que la répartition qualitative et quantitative, globale et relative, des acides aminés libres de différents milieux mis en incubation varie le plus souvent à la fois avec l'aération, la durée de fermentation et la nature des substrats.

La répartition qualitative des acides aminés libres, parmi lesquels se trouvent les composés les plus courants des milieux biologiques, se modifie, principalement en anaérobiose et dans les fermentations de paille et de glucose, par l'apparition de 2 acides aminés non protéiques : l'acide β -amino-isobutyrique et l'acide δ -amino-valérique.

La répartition quantitative globale des acides aminés libres, étroitement liée à celle de l'azote minéral, apparaît ainsi, comme cette dernière, sous l'étroite dépendance des conditions d'aération, conditions qui déterminent, pour un même substrat et pour des durées d'incubations analogues, la dynamique de l'azote durant l'incubation.

La répartition quantitative relative des acides aminés libres, étudiée à partir des résultats analytiques grâce aux techniques de KENDALL et STUART (1966) et de VAN DEN DRIESCHE (1965), fait apparaître ici encore le rôle déterminant du facteur aération. La durée d'incubation et la nature des substrats — dont dépend leur fermentescibilité — interviennent seulement par leur action sur le rythme d'établissement des conditions oxydantes ou réductrices.

Le rapprochement de ces résultats avec ceux que fournit l'étude des acides aminés totaux des profils (DECAU, 1969) a permis de mettre en évidence la parenté relative, d'une part, entre la répartition des acides aminés libres des milieux aérobies et celle des acides aminés totaux dans les horizons de surface, d'autre part, entre la répartition des acides aminés libres des milieux anaérobies et celle des acides aminés totaux des horizons profonds.

Mais la comparaison des milieux incubés et des horizons de sol fait aussi apparaître des dissemblances. Celles-ci tirent leur origine : de la différence moindre, entre les conditions d'aération des sols et des sous-sols étudiés, qu'entre les milieux incubés en aérobiose et en anaérobiose, de l'effet tampon du sol vis-à-vis du potentiel d'oxydo-réduction et de l'état différent des composés dosés. A la mobilité des acides aminés libres s'oppose en effet la stabilité relative des acides aminés totaux, en grande partie inclus dans des matières humiques et situés de ce fait dans des conditions de métabolisme différentes.

La comparaison de la répartition des acides aminés libres des milieux incubés avec celle des acides aminés totaux des sols met donc bien en lumière l'influence déterminante des conditions d'aération des sols sur la dynamique de leurs acides aminés. Mais en même temps, elle souligne — comme l'ont fait déjà apparaître les résultats de nos précédents mémoires (DECAU, 1968, 1969) la nécessité d'études nouvelles de la dynamique des acides aminés des sols et en particulier du mode d'incorporation de ces composés dans les colloïdes humiques et de leur mobilité, phénomènes dont dépend très directement la nutrition des cultures.

Reçu pour publication en mars 1969.

SUMMARY

SOME OBSERVATIONS ON THE INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL CONDITIONS
ON THE DISTRIBUTION OF NITROGEN IN THE SOIL.

III. — AMINO-ACIDS AND AERATION CONDITIONS

With the object of studying the influence of aeration on the production of amino-acids in soils, various different habitats (soil + straw, soil + glucose, soil alone, straw alone) were incubated under aerobic and anaerobic conditions and their free amino-acids determined after 0.4 and 16 days of incubation at 30°C. The conditions of the soil habitat (in incubated soils) and the content of mineral nitrogen (in the incubated straws) were determined at the same time.

The content of free amino nitrogen in the aerobic conditions steadily drops in the course of incubation, whereas under anaerobic conditions it reaches a minimum and then increases. Similar variations are found for mineral nitrogen (almost exclusively found as ammoniacal N) where the content decreases under aerobic conditions and passes through a minimum in an anaerobic environment.

During incubation the distribution of free amino-acids is changed. Measurement of the KENDALL and STUART intervals (1966) separating the various environments analyzed, as regards the distribution of these compounds, has enabled us to show the overall importance and the direction of the variations noted, together with the convergences and divergences in the distribution of the various free amino-acids.

Eleven out of twenty environments examined can be put into four groups characterized by their free amino-acid distribution, which groups are not necessarily differentiated in all cases by the nature of the environment, aeration conditions or stage of incubation.

However, from the results obtained, it has been possible, to analyze the effects of each factor. Thus it appears that the differentiation of spectra of free amino-acids is essentially associated with different oxy-reduction conditions in the environments examined, these differences depending on the buffering power of the environment as regards its redox potential, on the fermentability of the substrate and on the length of time involved.

These results tend to agree with those we previously obtained (DECAU, 1969) in a study of the total amino-acids in soil profiles, and on the one hand, throw light on several relationships, between aerobic incubation and surface horizons and on the other hand, between anaerobic incubation and deep horizons: on the larger molar proportions of the α -amino-acids, and the relationship of neutral short chain amino-acids to their weaker superior homologues in aerated habitats and surface horizons rather than in anaerobic, deep horizon environments. These phenomena confirm the hypothesis of the influence of aeration on the distribution of amino-acids in the profiles and thus show the important part played by micro-organisms in thus differentiating horizons.

Nevertheless this association underlines certain differences (for instance the case of tyrosine in particular) which among other things, could be caused by, the variable affinity of certain amino-acids towards incorporation in humic materials.

ZUSAMMENFASSUNG

BEITRAG ZUR UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES DER MILIEUEIGENSCHAFTEN
AUF DIE VERTEILUNG DES STICKSTOFFS IM BODEN

III. — AMINOSÄUREN UND BELÜFTUNGSBEDINGUNGEN

Um den Einfluss der Belüftungsbedingungen auf die Dynamik der Aminosäuren der Böden zu untersuchen, wurden verschiedene Milieus (Boden Stroh, Boden + Traubenzucker, Boden allein, Stroh allein) mit und ohne Belüftung in Aerobiose oder Anerobiose eingesetzt und ihre freien Aminosäuren nach 0,4 und 16 Tagen unter 30°C festgestellt. Die Milieueigenschaften (in der untersuchten Böden) und der Gehalt an mineralischem Stickstoff (im gegorenen Stroh) wurden gleichzeitig bestimmt.

Der Gehalt an freiem Amino-Stickstoff der belüfteten Milieus nimmt regelmässig im Laufe des Einsetzens ab, während er in den unbelüfteten Milieus nach einer Abnahme bis zu einem Mini-

мум einen Zuwachs aufweist. Ähnliche Variationen werden für den mineralischen Stickstoff (fast einzig durch ammoniakalischen Stickstoff vertreten) beobachtet, dessen Gehalt im belüfteten Milieu abnimmt und im unbelüfteten Milieu ein Minimum aufweist.

Während der Einsätze ändert sich die Verteilung der freien Aminosäuren. Die Messung der Abstände von KENDAL und STUART (1966) zwischen den verschiedenen untersuchten Milieus erlaubt, was die Verteilung dieser Zusammensetzungen anbetrifft, die gesamte Grösse und die Richtung der beobachteten Variationen, ferner die gesamten Konvergenzen und Divergenzen der Verteilung der freien Aminosäuren zu präzisieren.

Elf der zwanzig analysierten Milieus bilden vier Gruppen, die durch die Verteilung ihrer freien Aminosäuren charakterisiert wurden, die sich aber nicht in jedem Falle durch die Natur der Milieus, durch die Belüftungsbedingungen oder durch die Stufe des Einsatzes unterscheiden.

Aus der erhaltenen Ergebnissen jedoch konnte der Einfluss jedes Faktors bestimmt werden. So ergibt sich, dass die Verteilung des Spektrums der freien Aminosäuren hauptsächlich von den Unterschieden der Oxydo-Reduktionsbedingungen der analysierten Milieus abhängt. Diese Unterschiede stellen eine Funktion des Puffervermögens des Milieus gegenüber dem Redox-Potential, der Gärungsfähigkeit des Substrats und der Entwicklungsdauer dar.

Der Vergleich dieser Ergebnisse mit denen, die wir zuvor (DECAU 1969) in der Untersuchung der gesamten Aminosäuren der Bodenprofile erhielten lässt mehrere Folgerungen zu, einerseits zwischen den aerobischen Einsätzen und den Oberflächen-Horizonten, anderseits zwischen den anaeroben Einsätzen und den tiefen Horizonten, wie bedeutendere Molanteile der α -Aminosäuren und geringere Anteil der neutralen, kurzkettigen Aminosäuren gegenüber ihren höheren Homologen in den belüfteten Milieus und in den Oberflächen-Horizonten als in den anaeroben Milieus und in den tiefen Horizonten. Diese Tatsachen bestätigen die Hypothese des Einflusses der Belüftungsbedingungen auf die Verteilung der Aminosäuren in den Profilen und zeigen somit die wichtige Rolle, die die Mikroorganismen in der Differenzierung der Horizonte in dieser Hinsicht spielen.

Dieser festgestellten Annäherung gegenüber, sind auch einige Abweichungen (namentlich bezüglich des Tyrosins), die sich neben anderen Ursachen aus der wechselnden Übergangsfähigkeit der verschiedenen Aminosäuren in Huminsäureverbindungen ergeben können, vorhanden.

РЕЗЮМЕ

К изучению влияния условий среды на распределение азота в почве. 111. — Аминокислоты и условия аэрации.

Ж. ДЖО.

Для изучения влияния условий аэрации на динамику почвенных аминокислот автор провел в аэробных и анаэробных условиях опыты инкубации различных сред (почва + солома, почва + глюкоза, почва, солома) и определения их аминокислот после разных сроков экспозиции (от 0,4 до 16-ти дней), при температуре в 30 °C. Одновременно были уточнены условия среды (инкубированных почв) и содержание азота (в переработанной соломе).

В течении инкубации содержание свободного аминного азота постепенно уменьшается в аэробных средах, в то время как в анаэробных условиях оно сперва доходит до минимального значения, а затем снова повышается. Те же изменения были отмечены и для минерального азота (представленного почти исключительно аммонийной формой), содержание которого тоже прогрессивно уменьшается в аэробной среде и проходит через минимальную точку в условиях анаэробнозиса.

Распределение аминокислот меняется в течении инкубации. Измерение расстояний Кендалла и Стюарта (1966) разделяющих различные анализированные среды в смысле распределения их составных частей, позволило уточнить общие размеры и направление наблюдавшихся изменений, также как и совпадения или расхождения в общем распределении свободных аминокислот.

Одиннадцать из двадцати проанализированных сред об'единяются в 4 группировки характеризующиеся размещением их аминокислот, но не отличающиеся, во всех случаях, ни по природе среды, ни по условиям азрации, ни по стадиям инкубации. И несмотря на это, на основании полученных результатов, удалось проанализировать влияние каждого отдельного фактора. И выяснилось что дифференциация спектра свободных аминокислот связана в основном с различиями окислительно — восстановительных условий анализированных сред, которые в свою очередь зависят от буферной мощности среды по отношению к потенциалу редокс, от бродительной способности субстрата и длительности ее эволюции.

Сравнение этих результатов с полученными автором (Дэко 1968 в) при изучении суммы аминокислот почвенных профилей, выявляет некоторые аналогии существующие между инкубациями в аэробных условиях и поверхностными горизонтами с одной стороны, и инкубациями в условиях анаэробии и глубокими горизонтами — с другой : более крупные молярные пропорции омега-аминокислот и более слабые соотношения между нейтральными аминокислотами с короткой цепью и их более крупными гомологами в аэробных средах и в поверхностных горизонтах, чем в средах анаэробных и горизонтах глубоких. Эти факты подтверждают гипотезу о влиянии условий азрации на распределение аминокислот по профилям и указывают на важность роли микроорганизмов для дифференциации горизонтов в этом отношении. Сравнение это выявляет также и отклонения (особенно в случае тирозина) вызванные, кроме всяких иных причин, различной способностью разных аминокислот ко включению в гуминовые соединения.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BISERTE *et al.*, 1960. Séparation des acides aminés des milieux biologiques complexes. V. Description d'un couplage de méthodes chromatographiques et électrophorétiques. *Chromatogr.* **3**, 25-47.
- BREMNER J. M., 1955. Nitrogen transformations during the biological decomposition of straw composted with inorganic nitrogen. *J. agric. Sci.*, **45**, 469-475.
- CHARLOT G., 1961. *Les méthodes de la chimie analytique. Analyse quantitative minérale.* Masson et Cie., édit.
- COULSON C. B., DAVIES R. I., KHAN E. J. A., 1959. Chemical studies of upland peat in North Wales. *J. Sci. Food Agric.*, **10**, 209-217.
- DADD C. C., FOWDEN L., PEARSALL W. H., 1953. An investigation of the free amino-acids in organic soil types using paper partition chromatography. *J. Soil Sci.*, **4**, 69-71.
- DECAU J., 1962. Variations comparées des acides aminés libres au cours de fermentations aérobie et anaérobies des pailles de blé. *C. R. Acad. Sci.*, **254**, 4530-4532.
- DECAU J., 1967. Observations sur la répartition comparée des acides aminés dans la matière organique non évoluée et dans l'humus du sol. *C. R. Acad. Sci.*, **264**, 1836-1839.
- DECAU J., 1968. Contribution à l'étude de l'influence des conditions de milieu sur la répartition de l'azote dans le sol. I. Principales formes d'azote obtenues par hydrolyse. *Ann. agron.*, **19**, 653-683.
- DECAU J., 1969. Contribution à l'étude de l'influence des conditions de milieu sur la répartition de l'azote dans le sol. II. Acides aminés extraits par hydrolyse. *Ann. agron.*, **20**, 35-59.
- FLAIG W., 1958. Chimie des matières organiques dans le sol et leur action physiologique. *Conf. II et IV Commission Soc. internation. Ét. Sol.*, Hambourg II.
- FLAIG W., 1964. Effects of microorganisms in the transformation of lignin to humic substances. *Geochim. Cosmoch. Acta*, **28**, 1523-1535.
- HAIDER K., FREDERICK L. R., FLAIG W., 1965. Reactions between aminoacid compounds and phenols during oxidation. *Plant Soil XXII*, **1**, 49-54.
- JACKSON M. L., 1964. *Soil chemical analysis.* Prentice-Hall, Inc.
- JACQUIN F., 1960. Évolution des acides aminés pendant la décomposition de la matière organique du sol. *C. R. Acad. Sci.*, **251**, 1810-11.

- KENDALL M. G., STUART A., 1966. *The advanced theory of statistics*. 3. Design and analysis and time series. London Griffin ed.
- PAUL E. A., SCHMIDT E. L., 1960. Extraction of free amino-acids from soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **24**, 195-198.
- PAUL E. A., SCHMIDT E. L., 1961. Formation of free amino-acids in rhizosphere and non rhizosphere soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **25**, 5, 359.
- PUTNAM H. D., SCHMIDT E. L., 1959. Studies on the free amino-acids fractions of soils. *Soil Sci.*, **87**, 1, 22.
- RAO C. R., 1952. *Advanced statistical methods in biometric research*, New York, London, Willey.
- ROBERT M., 1964. Étude des sols au cours de l'épreuve d'incubation. I. Acides aminés libres. *Ann. Inst. Pasteur*, **106**, 319-325.
- SCHARPENSEEL H. W., 1962. Studies with ^{14}C and ^3H -labelled humic acids as to the mode of linkage of their amino-acid fractions and with $^{35}\text{SO}_4$, ^{35}S -methionine and S-cystine regarding the sulphur turnover in humic acid and soil. *Radioisotopes Soil Plant Nutr. Stud. Symp.* Bombay, 115-133.
- STADTMAN Th., 1956. Enzymic reduction of amino-acids : a proline reductase of amino-acid fermenting *Clostridium*, strain H. F. *Biochem. J.*, **62**, 614-621.
- STEVENSON F. J., 1956. Effect of some longtime rotation on the amino-acid composition of the soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **20**, 204-208.
- SWIETOCHOWSKI B., MIKLASZEWSKI S., 1964. The effect of repeated cropping with lucern on humus quality and free amino-acid composition and on crop yields in the rotation. II. The effects of lucern on the dynamic of free amino-acids in soil, as depending on weather conditions. *Rozen flebozn*, **14**, Suppl. 155-168. (Soils Fertil., 1965. n° 772).
- THOMAS M., 1958. Melanin. *Encyclopedia of Plant physiology*, VIII, 1076-1082.
- TINSLEY J., ZIN M. K., 1954. The isolation of lignoprotein from soil. *C. R. 5^e Congr. internation. Sci. Sol*, Léopoldville, 342-347.
- TURNER J. S., 1960. Fermentation in higher plants ; its relation to respiration ; the Pasteur effect. *Encyclopedia Plant physiol.*, **12**, 42-83.
- VAN DEN DRIESCHE R., 1965. La recherche des constellations de groupes à partir des distances généralisées D^2 de MAHALANOBIS. *Biom. Prax.*, **6**, 1, 36-47.
- WIEGAND C. L., LEMON E. R., 1958. A field study of some plant-soil relations in aeration. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **22**, 216.
- YAMASHITA T., AKIYA T., 1963. Amino-acid composition of soil hydrolysates. *Soil Sci. Plant Nutrit.*, **10**, n° 1, 43-44.

